

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
19 février 2004 (19.02.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/014928 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :

C07H 15/04

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2003/002330

(22) Date de dépôt international : 23 juillet 2003 (23.07.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :

02/09627 25 juillet 2002 (25.07.2002) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUÉES DE ROUEN (INSA) [FR/FR]; Place Emile Blondel - B.P.8, F-76130 Mont Saint Aignan (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : QUIRION, Jean-Charles [FR/FR]; 194 rue de Monfort, 27130 Bourg-Achard (FR). PANNECOUCKE, Xavier [FR/FR]; 32 rue du Vallon, 76150 Maromme (FR). D'HOOGHE François [FR/FR]; 14 rue Jacques Boutrolles, appartement 139, 76130 Mont Saint Aignan (FR). MARCOTTE, Stéphane [FR/FR]; 218 route d'Argueil, 76750 Buchy (FR). CASTELLOT - DELIENCOURT - GODEFROY, Géraldine [FR/FR]; 22 rue Eugène Renault, 94700

Maisons Alfort (FR). JUBAULT, Philippe [FR/FR]; 89, allée de la Mare Sangsue, F-76160 Preaux (FR). GOUGE, Vanessa [FR/FR]; 2, rue Amédée Méreaux, F-76000 Rouen (FR).

(74) Mandataire : DE SAINT PALAIS, Arnaud; Cabinet Moutard, 35, rue de la paroisse, F-78000 Versailles (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

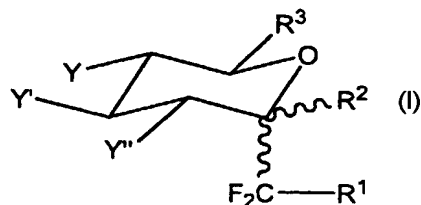
Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: NOVEL DIFLUORINATED GEM COMPOUNDS, PREPARATION METHODS THEREOF AND APPLICATIONS OF SAME

(54) Titre : NOUVEAUX COMPOSES GEM DIFLUORES, LEURS PROCÉDES DE PRÉPARATION ET LEURS APPLICATIONS



(57) Abstract: The invention relates to a difluorinated gem compound having formula (I) wherein R¹ is a group comprising an alkyl chain that is substituted by at least one amine, amide or acid function, R² is a hydrogen atom H or a free or protected alcohol function, R³ is group H, CH₃, CH₂OH, CH₂-OGP wherein GP is a protecting group such as an alkyl, benzyl (Bn), trimethylsilyl (TMS), tert-butyldimethylsilyl (TBDMS), tert-butyldiphenylsilyl (TBDPS), acetate (Ac) group, etc. and Y, Y', Y'' are independent groups wherein Y, Y', Y'' = H, OR, N₃, NR'R'', SR'... with R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, etc., R', R'' = H, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), C(=O)-alkyl, C(=O)-Bn, etc., R' = H, alkyl, Ac. The invention applies in particular to the use of said compound for the preparation of antitumoral, antiviral, hypoglycaemic and anti-inflammatory medicaments and compounds for immunology and cosmetology or glycopeptide analogues of antifreeze molecules.

C(=O)-Bn, etc., R' = H, alkyl, Ac. The invention applies in particular to the use of said compound for the preparation of antitumoral, antiviral, hypoglycaemic and anti-inflammatory medicaments and compounds for immunology and cosmetology or glycopeptide analogues of antifreeze molecules.

(57) Abrégé : Le produit selon l'invention concerne un composé gem difluoré de formule (I) où R₁ est un groupement comportant une chaîne alkyle substituée par au moins une fonction amine, amide ou acide, R₂ est un atome d'hydrogène H ou une fonction alcool libre ou protégée, R₃ est un groupement H, CH₃, CH₂OH, CH₂-OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac),... Y, Y', Y'' sont des groupes indépendants où Y, Y', Y'' = H, OR, N₃, NR'R'', SR'... avec R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, etc., R', R'' = H, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), C(=O)-alkyl, C(=O)-Bn, etc., R' = H, alkyl, Ac. Elle s'applique notamment à l'utilisation dudit composé pour la préparation de médicaments antitumoraux, antiviraux, hypoglycémisants, anti-inflammatoires et de composés pour l'immunologie, pour la cosmétologie, ou encore d'analogues glycopeptidiques de molécules antigél.



Publiée :

— *sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

5 **NOUVEAUX COMPOSES GEM DIFLUORES, LEURS PROCEDES DE
PREPARATION ET LEURS APPLICATIONS**

- 10 L'invention concerne un procédé pour la synthèse de composés gem difluorés. Elle s'applique plus particulièrement, mais non exclusivement, à la préparation de composés glycoconjugués et C-glycosides notamment pour la fabrication de médicaments antitumoraux, antiviraux, hypoglycémiants, anti-inflammatoires ou encore pour l'immunologie, la cosmétologie et la
- 15 préparation d'analogues glycopeptidiques de molécules antigél.

Ces dernières années, le nombre des recherches ayant trait aux molécules organiques fluorées s'est considérablement accru. Cet enthousiasme s'explique par la reconnaissance de l'impact du fluor dans l'activité biologique

20 des molécules. En effet, les propriétés physiologiques des composés bioactifs sont modifiées par l'introduction du fluor et les biochimistes sont demandeurs de nouvelles méthodes d'introduction sélective du fluor.

Cependant, les principaux apports quant à des nouvelles molécules biologiques importantes ont été faits essentiellement dans la monofluoration et

25 la trifluoration.

L'introduction du groupe difluorométhylène CF_2 a pourtant montré une réelle importance dans des composés tels que la Gemcitabine® (Gemzar, Lilly) et la

Vinflunine® (Pierre Fabre) qui sont actuellement en essai clinique comme agents antitumoraux (Figure 1).

5 Cet intérêt pour la fluoration sélective de composés biologiques est lié à la nature même de l'atome de fluor : son électronégativité (élément le plus électronégatif), l'énergie de la liaison C-F (484 kJ.mol^{-1} ; C-C : 348 kJ.mol^{-1}).

10 Pour remplacer l'oxygène, le groupe difluorométhylène CF_2 s'est révélé être un candidat particulièrement attrayant :

- D'une part, l'électronégativité de l'oxygène (3,5) est assez proche de celle du groupe CF_2 (3,3) ;
- D'autre part, lors des premières études menées en 1984 en remplaçant l'oxygène d'un analogue de phosphate dans des structures de type adénosine diphosphate (ADP), il a été montré que le groupe CF_2 était
15 un équivalent tétraédrique de l'oxygène par la disposition spatiale des deux fluors, représentée sur la figure 2.

Par ailleurs, les électronégativités étant très voisines, les effets électroniques
20 dus au remplacement sont minimisés.

Ainsi, des analogues de la phosphotyrosine et de la phosphosérine représentés sur la figure 3 ont été récemment synthétisés.

Ces composés sont des inhibiteurs d'enzymes phosphatases qui interviennent
25 dans la transduction des signaux intracellulaires.

Par ailleurs, des synthèses d'analogues de composés glycoconjugués sont étudiées avec attention. Ce sont des composés formés de la conjugaison entre un sucre et un autre composé (aglycone) tel qu'un acide aminé (glycoprotéine,
30 glycopeptide), un lipide (glycolipide), un stéroïde ou un triterpène, un alcaloïde, une cétone...

En effet, ces derniers, avec entre autres les glycoprotéines et les glycolipides qui sont des constituants des membranes cellulaires, sont des composés largement impliqués dans de nombreux processus biochimiques tels que la reconnaissance intercellulaire ou la régulation de croissance des cellules. Pour

5 cette raison, les composés glycoconjugués sont d'un enjeu thérapeutique considérable et trouvent des applications comme antitumoraux ou antiviraux.

Or, ces composés, en raison de la présence d'une liaison osidique (liaison impliquant l'oxygène dit en position anomérique) sont fragiles vis-à-vis de plusieurs systèmes enzymatiques dont les enzymes protéases et les enzymes

10 hydrolases.

Il est donc intéressant, pour conserver aux composants leurs propriétés biologiques, de remplacer l'oxygène de la liaison osidique afin que cette liaison ne soit plus dégradée par un processus enzymatique.

15 Des analogues où l'oxygène est remplacé par un groupement CH_2 ont été synthétisés, mais, en dépit d'un accroissement de la stabilité et d'un encombrement stérique semblable à celui de l'oxygène, le groupement CH_2 ne s'est pas révélé être un bon mime des propriétés biologiques du composé initial.

20

D'autres classes de composés où l'oxygène est remplacé par un azote ou un soufre et plus récemment par un groupe difluorométhylène sont étudiées afin de conférer aux composés glycoconjugués une stabilité accrue en milieu biologique.

25

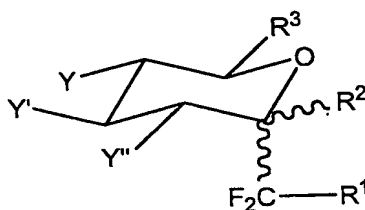
Cette transposition O/CF_2 semble particulièrement adaptée pour mimer l'oxygène sur le plan électronique ; les deux atomes de fluor jouant le rôle des deux doublets libres de l'oxygène (Figure 2).

30 Plusieurs équipes étudient l'accès à des C-glycosides (composés où l'oxygène anomérique est remplacé par un carbone) mais aucune méthode efficace

applicable à la large gamme de sucres rencontrés dans les glycoconjugués (D-glucose, D-galactose, D-galactosamine, D-glucosamine...) n'a été reportée à ce jour.

- 5 L'invention a donc plus particulièrement pour but de résoudre ces inconvénients.

A cet effet, elle propose un composé C-glycoside gem-difluoré de formule générale I :



10

où

R^1 est un groupement comportant une chaîne alkyle substituée par au moins une fonction amine, amide ou acide,

R^2 est un atome d'hydrogène H ou une fonction alcool libre ou protégée,

- 15 R^3 est notamment un groupement H, CH_3 , CH_2OH , CH_2-OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac)...

Y, Y', Y'' sont des groupes indépendants

- 20 Où Y, Y', Y'' = H, OR, N_3 , $NR'R''$, SR''' ...

avec R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, ...,

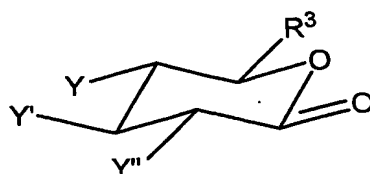
R' , R'' = H, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), $C(=O)$ -alkyl,

$C(=O)$ -Bn, ...,

R''' = H, alkyl, Ac.

25

En outre, ce composé de formule générale I pourra être préparé par une réaction entre une lactone de formule générale II :



où R^3 est notamment un groupement H, CH_3 , CH_2 -OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac)...

Y, Y', Y'' sont des groupes indépendants

Où Y, Y', Y'' = H, OR, N_3 , $NR'R''$, SR''' ...

avec R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, ...,

R' , R'' = H, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), $C(=O)$ -alkyl,

$C(=O)$ -Bn, ...,

R''' = H, alkyl, Ac.

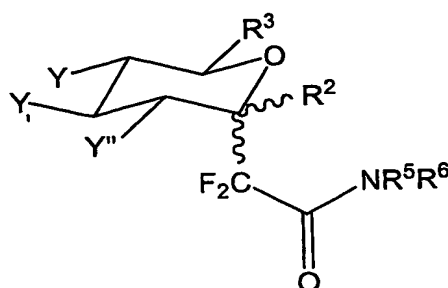
et au moins un dérivé halogéné de formule générale $XCF_2CO_2R^8$, où X est un halogène, en présence de zinc ou d'un dérivé de lanthanide et R^8 =alkyl, aryl...

Ledit dérivé de lanthanide pourra par exemple être le diiodure de samarium Sml_2 .

Selon une variante, ledit procédé pourra utiliser le zinc en association avec du titanocène.

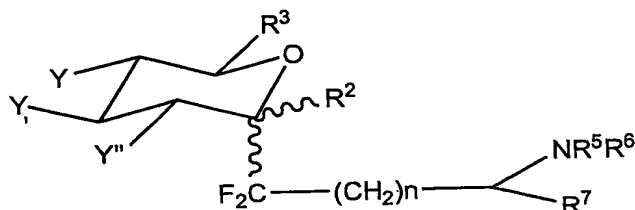
La déoxygénation pour passer d'un composé de formule I où $R^2 = OH$ à un composé de formule I où $R^2 = H$ pourra être réalisée par exemple par réduction directe ou radicalaire ou encore par passage par des dérivés acétates, tosylates, xanthates, oxalates suivi par une réduction radicalaire.

Selon une variante, les composés gem-difluorés pourront plus précisément avoir pour formule générale III :

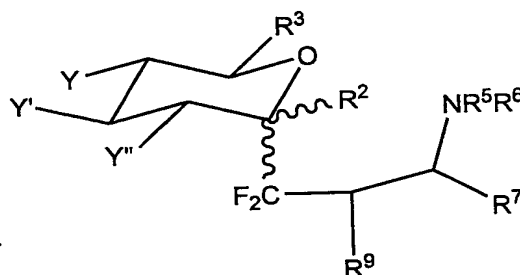


où R^5 et R^6 = H ou un groupement fonctionnalisé ou non tel qu'une chaîne carbonée fonctionnalisée portant entre autres une fonction amine, aminoacide, aminoester, une chaîne peptidique, une protéine, un carbohydrate, un stéroïde
 5 ou un triterpène, un alcaloïde, un lignane ou des composés d'intérêt pharmacologique...

Selon une autre variante, les composés gem-difluorés pourront plus précisément avoir pour formule générale IVa et IVb :



IVa

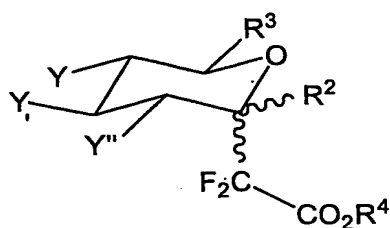


IVb

10

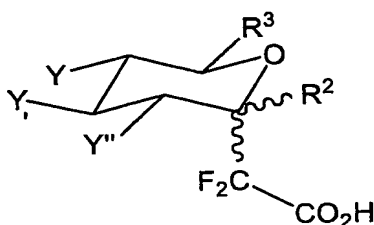
où R^5 , R^6 , R^7 et R^9 = H ou un groupement fonctionnalisé ou non tel qu'une chaîne carbonée fonctionnalisée portant entre autres une fonction amine, aminoacide, aminoester, une chaîne peptidique, une protéine, un carbohydrate,
 15 un stéroïde ou un triterpène, un alcaloïde, un lignane ou des composés d'intérêt pharmacologique.

Un des composés intermédiaires obtenus pour l'obtention de composés de
 20 formule I pourra être un composé de formule générale V comportant une fonction ester :

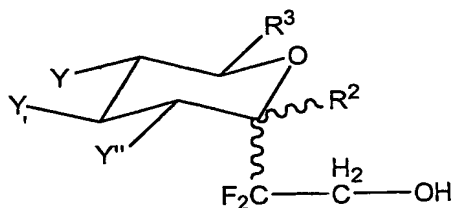


où R^4 pourra être un groupe tel qu'un groupe alkyle, aryle, allyle, ce groupe étant fonctionnalisé ou non.

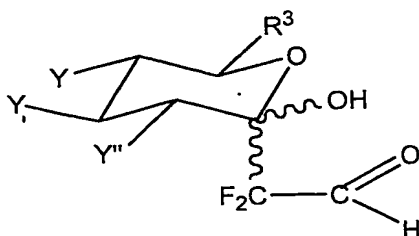
Cette fonction ester $-\text{CO}_2\text{R}^4$ pourra être saponifiée pour obtenir l'acide de
5 formule VI :



Cette fonction ester $-\text{CO}_2\text{R}^4$ pourra également être réduite en fonction alcool,
par exemple par le tétraborohydruure de sodium (NaBH_4) ou le tétrahydruure de
10 lithium aluminium (LiAlH_4) pour donner des composés C-glycosides de
formule générale VII :



Ces composés de formule générale VII pourront eux-mêmes être oxydés en
15 aldéhyde par différentes méthodes telles que les méthodes de Swern, de Dess-
Martin pour obtenir des composés de formule générale VIII :



Les composés VIII sont aussi accessibles à partir des esters V après passage au thioester et réduction.

Ces composés VIII peuvent être obtenus sous la forme hémiacétalique.

- 5 Les composés non osidiques de formule I, où $R^1 = CH_2-OH$, pourront également être oxydés en aldéhyde par l'une ou l'autre des méthodes citées précédemment.

- 10 En outre, selon une autre variante, des composés de formule I où $R_1 = -COOH$ pourront être utilisés dans une réaction de Ugi avec une amine, un aldéhyde et un isonitrile pour obtenir des composés de formule III où $R_1 = -C(=O)-NR^5R^6$.

- 15 Selon une dernière variante, des composés de formule générale I pourront être obtenus par couplage d'un dérivé de sucre avec une amine, par exemple un acide aminé ou un peptide.

Enfin, le groupe CF_2 est particulièrement résistant aux processus de dégradations biochimiques et il permet donc la synthèse de structures non hydrolysables.

20

Les composés de formules générales I-VIII ainsi que leurs éventuels dérivés et sels d'addition à un acide minéral ou organique pharmaceutiquement acceptable pourront être présentés par exemple sous forme de comprimés, gélules, dragées, solutions ou suspensions buvables, émulsions, suppositoires.

- 25 Outre les excipients inertes, non toxiques et pharmaceutiquement acceptables, tels que l'eau distillée, le glucose, le lactose d'amidon, le talc, les huiles végétales, l'éthylène glycol..., les compositions ainsi obtenues pourront également contenir des agents de préservation.

D'autres principes actifs pourront être ajoutés dans ces compositions.

La quantité de composé selon l'invention et d'autres éventuels principes actifs dans de telles compositions pourra varier selon les applications, l'âge et le poids du malade.

- 5 Des exemples de préparation de composés selon l'invention seront décrits ci-après, à titre d'exemples non limitatifs.

Les abréviations rencontrées sont définies ainsi :

- 10 éq. : équivalent

g : gramme

Hz : Hertz

mg : milligramme

MHz : mégaHertz

- 15 min.: minute

mL: millilitre

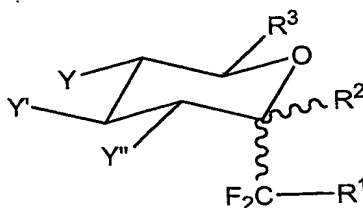
mmol: millimole

μmol: micromole

nmol : nanomole

20

Les exemples ci-après décrivent la préparation de composés glycoconjugués gem-difluorés de formule générale I :



- 25 Ces composés peuvent être synthétisés par différents procédés.

Pour diminuer le nombre d'étapes lors de la synthèse de composés glycoconjugués gem-difluorés, des lactones 1 ont été employées en tant

qu'électrophiles (Figure 4). Les dérivés 2 ont été obtenus à partir des lactones 1 par attaque du bromodifluoro acétate d'éthyle 3 en présence de zinc Zn ou de diiodure de samarium SmI_2 .

- 5 Il est à noter que cette méthode est générale et peut être appliquée à toutes les familles de glucopyranoses différemment substituées (Y , Y' , $\text{Y}'' = \text{OR}$, N_3 , NRR' , SR'' , ...), les lactones de départ étant facilement accessibles en une ou plusieurs étapes à partir de produits commerciaux (par exemple, dans la série glucose, par oxydation en une étape de produits commerciaux).

10

SYNTHESE DE COMPOSES C-GLYCOSIDES INTERMEDIAIRES 6 ET 7 (Figures 5 et 6) :

- 15 Dans l'exemple de la figure 5, dans un bicol de 100 mL surmonté d'un réfrigérant et d'un robinet d'introduction, 0.82 g de zinc (Zn) activé sont introduits (0.82 g, 12.5 mmol, 7 éq.). L'ensemble est mis sous vide et le zinc est chauffé au pistolet thermique pendant environ 5 min puis le vide est cassé avec un ballon d'argon.

- 20 15 mL de tétrahydrofurane (THF) anhydre sont ajoutés et la solution obtenue est portée à reflux. Le mélange, préparé sous argon et constitué de la lactone 4 (0.960 g, 1.782 mmol, 1 éq.), de bromodifluoro acétate d'éthyle $\text{BrCF}_2\text{COOEt}$ 5 (0.69 mL, 5.346 mmol, 3 éq.) et de tétrahydrofurane anhydre (15 mL) est introduit.

25

L'ensemble est laissé à reflux pendant 2h30 (réaction suivie par chromatographie sur couche mince (CCM) avec comme éluant un mélange acétate d'éthyle / cyclohexane 3/7), puis 30 mL d'acide chlorhydrique de concentration 1N et du dichlorométhane sont ajoutés à la solution.

30

Les phases sont séparées et l'extraction est réalisée avec du dichlorométhane (trois fois 10 mL de dichlorométhane sont successivement ajoutés à la phase aqueuse et extraits), les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium (MgSO_4) anhydre, filtrées et concentrées à l'évaporateur sous vide.

La séparation est réalisée par chromatographie sur une colonne de silice avec comme éluant un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle dans des proportions de neuf pour un. Après concentration des fractions recueillies, le produit **6** se présente sous la forme d'une huile jaunâtre avec un rendement pondéral de 89% sous forme d'un seul diastéréoisomère.

Le composé **6** est obtenu avec un rendement pondéral de 62% si l'on utilise le diiodure de samarium en remplacement du zinc sous forme d'un mélange séparable des deux diastéréoisomères (**mélange 2 : 1**).

Les caractéristiques des appareils utilisés pour effectuer les analyses de tous les composés décrits dans la présente demande sont indiquées ci-dessous :

Les spectres RMN ^1H , ^{13}C , ^{19}F ont été enregistrés sur des spectromètres BRUKER DPX 300 et DPX 600. En RMN ^1H et ^{13}C , le tétraméthylsilane est utilisé comme référence interne. En RMN ^{19}F , la référence externe est le fluorotrichlorométhane CFCl_3 . Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (ppm), les constantes de couplage J en Hertz (Hz).

Les abréviations suivantes ont été utilisées :

s pour singulet, b pour un large singulet, d pour doublet, t pour triplet, q pour quadruplet, m pour multiplet ou massif, dd pour doublet de doublet...

Les spectres infrarouges sont tracés sur un appareil PERKIN-ELMER PARAGON 500 FT-IR en film liquide sur cristal de chlorure de sodium ou en

pastille de KBr (pour les solides). Les fréquences d'absorption sont exprimées en cm^{-1} .

Les spectres de masse ont été obtenus sur un spectrophotomètre JEOL AX 500
5 avec canon de FAB JEOL (Xe, 4kV, 10mA).

Les séparations par chromatographie sur colonne sont réalisées sous pression légère en suivant les techniques de chromatographie sur silice Kieselgel 60 (230-400 Mesh, Merck).

10 Le suivi est assuré par chromatographie sur couches minces (CCM) avec des plaques Kieselgel 60F-254-0.25mm. On appelle rapport frontal (R_f) le rapport de la distance de migration d'un composé sur un support donné sur la distance de migration d'un éluant.

15 Les analyses effectuées pour confirmer la structure du produit obtenu **6** sont présentées ci-dessous :

Chromatographie sur couche mince (CCM)

$R_f = 0.55$, éluant : acétate d'éthyle / cyclohexane 3/7

20

Données RMN :

RMN ^{19}F (282 MHz ; solvant : chloroforme deutéré (CDCl_3)) :

-117.67, d, $^2J_{\text{F-F}}=256\text{Hz}$; -120.03, d, $^2J_{\text{F-F}}=256\text{Hz}$

25

RMN ^1H (300 MHz ; solvant : chloroforme deutéré (CDCl_3)) :

1.19, t, $^3J=7.14\text{Hz}$, 3H : CH_3 (OEt) ; 3.52-3.70, m, 3H (H_5+2H_6) ; 3.90-3.95, m, 3H : $\text{H}_2+\text{H}_3+\text{H}_4$; 4.18, q, $^3J=7.14\text{Hz}$, 2H : CH_2 (OEt) ; 4.39-5.19, m, 8H : 4 $\text{CH}_2(\text{OBn})$; 7.14-7.24, m, 20H : 4x 5 CH (Ph).

30

RMN ^{13}C (75.5 MHz ; solvant : chloroforme deutéré (CDCl_3)) :

- 14.29, CH₃ (OEt) ; 63.89, CH₂ (OEt) ; 68.68, CH₂ (C₆) ; 73.06, CH ; 73.82 ,
75.47 , 75.67 , 76.37 : 4xCH₂ (OBn) ; 77.83 , CH ; 78.62 , CH ; 83.79 , CH ;
96.59, dd, ²J_{C-F}=28.17Hz et ²J_{C-F}=26.44Hz , -CF₂C (OH)O- ;
112.79 , dd, ¹J_{C-F}=263.6Hz et ¹J_{C-F}=259.6Hz, CF₂ ; 137-138 CH (Ph) ;
5 163.32, dd, ²J_{C-F}=31.6Hz et ²J_{C-F}=31.0Hz, CF₂COOEt.

IR (cm⁻¹)

- 4059.6 , 3478.5 , 3089.5 , 3064.3 , 3031.6 , 2923.7 , 2852.0 , 2257.3 , 2925.7 ,
1875.4 , 1769.3, 1663.6 , 1605.9 , 1586.4 , 1497.3 , 1454.0 , 1396.7 , 1372.1 ,
10 1315.6 , 1087.7 , 1027.9, 910.6 , 856.8 , 802.1 , 736.7 , 698.1 , 648.9 , 605.5 ,
540.9 , 462.7 .

Spectrométrie de masse : FAB+ (Xe, 4KV, matrice de 3-nitrobenzylalcohol)

- 686(2%)= (M+Na)+, 663(4%)=M+, 661(6%), 572(3%)=(M-Bn)+,
15 554(3%)=(M-Bn-H₂O)+, 463(4%), 391(12%), 307(14%), 289(12%),
271(16%), 181(96%), 154(100%), 136(84%), 107(50%), 91(100%), 81(46%),
69(40%), 55(76%), 43(64%), 29(20%)

- La déoxygénation pour avoir accès aux dérivés 7 peut ensuite être réalisée par
20 différentes voies (réduction directe ou radicalaire, passage par des dérivés
acétates, tosylates, xanthates...).

- La saponification a pu être réalisée de façon quasi quantitative dans diverses
conditions que ce soit avec l'hydroxyde de sodium, de potassium ou de
25 lithium en solution aqueuse dans l'éthanol ou le THF (Figure 6) :

- Dans un ballon contenant l'ester 6 (0.5 g, 1.75 mmol, 1 éq.) dans le
tétrahydrofurane : (5 mL) ou dans l'éthanol (5 mL) est additionnée une
solution aqueuse de lithine LiOH (2M, 0.75 mL, 2 éq.) ou une solution
30 aqueuse de soude NaOH (0.07 g, 1.6 mmol) puis, l'agitation est laissée
pendant douze heures. Le milieu est évaporé dans le cas de l'utilisation

d'éthanol, puis repris avec du dichlorométhane. Le mélange est acidifié par de l'acide chlorhydrique HCl 1M, puis extrait plusieurs fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées.

5

Le produit obtenu est une huile incolore et le rendement quantitatif.

Données RMN:

10 RMN ¹⁹F (CDCl₃, 282,5 MHz)

-117.4, d (²J_{F-F} = 258 Hz) ; -119.1, d (²J_{F-F} = 258 Hz).

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz):

3.40-3.60, m, 3H, H5 et H6 ; 3.90-4.00, m, 3H, H2, H3 et H4 ; 4.38-4.79, m, 8

15 H, 4 CH₂(OBn) ; 7.05-7.22, m, 20 H, H ar.

RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5MHz)

68.6 (C6) ; 72.2 (C5) ; 73.5, 75.5, 75.9, 76.4 (4 CH₂(OBn)) ; 77.7, 78.5, 83.6
20 (C2; C3 et C4) ; 96.0, dd, ²J_{C-F} = 27.0Hz et ²J_{C-F} = 28.7Hz, -CF₂Cl(OH)O- ;
112.4, dd, ¹J_{C-F} = 260.3Hz et ¹J_{C-F} = 259.2Hz, CF₂ 128.1, 128.2, 128.4, 128.8,
128.9, 129.0 (C ar.) ; 137.2, 137.7, 137.9, 138.6 (C ar. Quat) 163.6, dd, ²J_{C-F} = 30.5Hz et ²J_{C-F} = 32.8Hz, CF₂COOH.

25

**SYNTHESE D'UN COMPOSE GEM-DIFLUORE A PARTIR DES
COMPOSES 6 ET 7**

- Réaction avec les amines

30

Cette réactivité permet d'avoir accès à des composés très intéressants, analogues de glycopeptides.

Des dérivés du composé **6** réagissent avec différentes amines primaires ou secondaires pour conduire à des amides correspondants. Les amines utilisées
5 sont des amines aliphatiques, benzyliques ou aromatiques et des dérivés d'acides aminés tel que la lysine (Figure 7) :

Dans un ballon sous atmosphère inerte contenant le produit de départ **6** (50 mg ; 0,075 mmol ; 1 équ.) en solution et l'acétate de la Boc-lysine-OMe **8** (48
10 mg ; 0,15 mmol ; 2 équ.) dans le dichloroéthane DCE (3 mL), est additionné la triéthylamine Et₃N (53 µL ; 0,375 mmol ; 5 équ.). Le mélange est chauffé au reflux pendant quarante huit heures puis le solvant est évaporé.

La purification du produit brut est réalisée par chromatographie sur une
15 colonne de silice avec comme éluant un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle dans des proportions de sept pour trois.

Après concentration, le produit **9** se présente sous la forme d'un solide jaune pâle avec un rendement pondéral de 84%.

20

Données RMN:

RMN ¹⁹F (CDCl₃, 282,5MHz)

-117.4, d, (²J_{F-F} = 259 Hz) ; -121.9, d, (²J_{F-F} = 259 Hz).

25

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)

1.18-1.60, m, 15 H, (CH₃)₃C et (CH₂)₃ ; 3.06-3.19, m, 2 H, CH₂N ; 3.52-3.69, m, 6 H, H5 ; H6 et CO₂CH₃ ; 3.84-4.18, m, 4 H, H2 ; H3 ; H4 et CHN ; 4.36-4.85, m, 8 H, 4 CH₂Bn ; 5.01, d, J=8,3 Hz, 1 H, NHBoc ; 6.60, m, 1 H, NH ;
30 7.10-7.23, m, 20 H, H ar.

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75,5MHz)

22.7, 28.8 ($(\text{CH}_2)_2$) ; 28.9 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$) ; 32.5 (CH_2) ; 39.6 (CH_2N) ; 52.7 (CO_2CH_3) ; 53.6 (CHN) ; 68.7 (C_6) ; 73.6, 75.3, 75.8, 76.4 (4 CH_2Bn) ; 72.1, 77.9, 78.6, 83.6 (C_2 , C_3 , C_4 et C_5) ; 96.1, dd, $^2J_{\text{C-F}} = 27,4$ Hz ($\text{CF}_2\text{CO}(\text{OH})$) ;
5 112.5, dd, $^1J_{\text{C-F}} = 261,7$ Hz (CF_2) ; 127.6, 127.7, 127.8, 128.3, 128.4, 128.5 (C ar.) ; 137.5, 137.9, 138.0, 138.3 (C ar. quat.) ; 155.6 (CO_2Me) ; 163.7, dd, $^2J_{\text{C-F}} = 27,4$ Hz (CF_2CONH) ; 173.3 (NHCO_2tBu).

Un dérivé glycosylé de l'alanine peut être obtenu à partir du composé 6
10 (Figure 8) ou du composé 7 (Figure 9) selon trois modes opératoires différents :

Le premier mode opératoire A est identique à celui utilisé pour le composé 9 dérivé de la lysine. Le rendement pondéral pour le composé 11 est de 30%
15 (Figure 8).

Le deuxième mode opératoire B (Figure 9) est le suivant :

Dans un ballon sous atmosphère inerte contenant l'acide 7 (50 mg ; $7,87 \cdot 10^{-3}$ mmol ; 1 éq.) dans le dichlorométhane DCM (2 mL), le BOP (Benzotriazol-1-yloxy-tris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate) (35 mg ;
20 $7,87 \cdot 10^{-3}$ mmol ; 1 éq.) et la diisopropyléthylamine DIEA (28 μL ; 0,016 mmol ; 2 éq.) sont introduits. Le milieu réactionnel est agité pendant une heure puis au milieu réactionnel une solution constituée de l'alanine 10 (11 mg ; $7,87 \cdot 10^{-3}$ mmol ; 1 éq.) et de la DIEA (14 μL ; $7,87 \cdot 10^{-3}$ mmol ; 1 éq.) dans le
25 dichlorométhane (2 mL) est ajoutée au milieu réactionnel. L'agitation est maintenue pendant vingt quatre heures. Le milieu est alors lavé avec une solution d'acide chlorhydrique HCl 1M. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée.

Le produit brut est alors purifié sur une plaque préparative de silice en utilisant comme éluant un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle dans des proportions de sept pour trois.

- 5 Le produit 11 est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement pondéral de 77%.

Le troisième mode opératoire C (Figure 9) est le suivant :

- 10 Dans un ballon sous atmosphère inerte contenant l'acide 7 (50 mg ; $7,87 \cdot 10^{-3}$ mmol ; 1 équ.) dans le dichlorométhane (2 mL) est introduit le BOPCl (bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinic chloride) (40 mg ; 0,016 mmol ; 2 équ.). Puis, l'agitation est laissée pendant une heure avant d'ajouter au milieu réactionnel une solution constituée du dérivé de l'alanine 10 (22 mg ; 0,016
- 15 mmol ; 2 équ.) et de la diéthylamine DIEA (44 μ L ; 0,023 mmol ; 3 équ.) dans le dichlorométhane (2 mL). L'agitation est maintenue pendant vingt quatre heures puis le milieu est lavé avec une solution HCl 1M. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée.
- 20 Le produit brut est alors purifié sur une plaque préparative de silice en utilisant comme éluant un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle dans des proportions de sept pour trois.

- 25 Le produit 11 est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement pondéral de 44%.

Données RMN :

RMN ^{19}F (CDCl_3 , 282,5 MHz)

- 30 -118.0, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 259$ Hz) ; -122.2, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 259$ Hz).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz)

1.26, d, $^3J=7,2$ Hz, 3 H, CH_3 ; 3.50-3.66, m, 3 H, H5 et H6; 3.63, s, 3 H, CO_2CH_3 ; 3.89-3.96, m, 3 H, H2, H3 et H4; 4.40-4.81, m, 10 H, NH; CHN et 4 CH_2Bn ; 7.11-7.21, m, 20 H, H ar.

5

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75,5 MHz)

16.7 (CH_3); 47.2 (CHN); 51.7 (CO_2CH_3); 67.3 (C6); 72.3, 73.9, 74.3, 75.0 (4 CH_2Bn); 70.9, 76.2, 77.1, 82.2 (C2, C3, C4 et C5); 126.6-127.4, m (C ar.); 136.5, 136.9, 137.0, 137.4 (C ar. quat.); 171.0 (CO_2Me).

10

Les réactions de couplage avec des acides aminés suivants tels que la phénylalanine, la thréonine, la méthionine, la proline ainsi qu'avec un dipeptide ont été réalisées en utilisant le BOPCl comme agent de couplage c'est à dire en suivant la même procédure que le mode opératoire C lors du couplage avec l'alanine (Figure 10).

15

Le produit 12b est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement pondéral de 42% (Figure 11).

20 Données RMN :

RMN ^{19}F (CDCl_3 , 282,5 MHz)

-117.7, d, ($^2J_{\text{F-F}}=261$ Hz); -121.6, d, ($^2J_{\text{F-F}}=261\text{Hz}$).

25

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz)

3.07, m, 2 H, CH_2Ph ; 3.44-3.67, m, 3 H, H5 et H6; 3.57, s, 3 H, CO_2CH_3 ; 3.91-3.98, m, 3 H, H2, H3 et H4; 4.25-4.85, m, 10 H, NH, CHN et 4 CH_2Bn ; 7.00-7.14, 25 H, H ar.

30

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75,5 MHz)

37.5 (CH₂Ph) ; 52.4 (CO₂CH₃) ; 53.1 (CHN) ; 68.3 (C6) ; 73.2, 75.0, 75.3, 76.0 (4 CH₂Bn) ; 72.0, 77.0, 78.2, 83.2 (C2, C3, C4 et C5) ; 127.3-129.3, m (C ar.) ; 135.0, 137.5, 137.9, 138.0, 138.4 (C ar. quat.) ; 170.3 (CO₂Me).

- 5 Le produit 12c est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement pondéral de 28% (Figure 12).

Données RMN :

- 10 RMN ¹⁹F (CDCl₃, 282,5 MHz)
-118.3, d, (²J_{F-F} = 257 Hz) ; -121.2, d, (²J_{F-F} = 257 Hz).

- RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz)
1.12, d, ³J = 6,4 Hz, 3H, CH₃ ; 3.48-3.64, m, 3H, H5 et H6 ; 3.7, s, 3H,
15 CO₂CH₃ ; 3.89-4.00, m, 3H, H2, H3 et H4 ; 4.22-4.82, m, 11H, NH ; CHN,
CHOH et 4 CH₂Bn ; 7.0-7.24, m, 20H, H ar.

- RMN ¹³C (CDCl₃, 75,5 MHz)
20.5 (CH₃) ; 53.2 (CO₂CH₃) ; 57.8 (CHN) ; 68.6 (CHOH) ; 68.7 (C6) ; 73.5,
20 75.4, 75.8, 76.4 (4 CH₂Bn) ; 72.2, 77.2, 78.4, 83.6 (C2, C3, C4 et C5) ; 128.1-
128.9 m (C ar.) ; 137.8, 137.9, 138.1, 138.7 (C ar. quat.) ; 170.5 (CO₂Me).

Le produit 12d est obtenu avec un rendement pondéral de 36% (Figure 13).

- 25 **Données RMN :**

RMN ¹⁹F (CDCl₃, 282,5 MHz)
-117.4, d, (²J_{F-F} = 260 Hz) ; -121.7, d, (²J_{F-F} = 260 Hz).

- 30 RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz)

1.89-1.99, m, 2H, CH_2 ; 2.09, s, 3H, SCH_3 ; 2.46, t, $^3J=7.0$ Hz, 2H, CH_2S ; 3.58-3.77, m, 3H, H5 et H6 ; 3.68, s, 3H, CO_2CH_3 ; 3.96-4.03, m, 3H, H2, H3 et H4 ; 4.43-4.88, m, 10H, NH ; CHN et 4 CH_2Bn ; 7.14-7.30, m, 20H, H ar.

5 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75,5 MHz)

15.7 (CH_2) ; 29.9 (SCH_3) ; 31.6 (CH_2S) ; 51.8 (CO_2CH_3) ; 53.2 (CHN) ; 68.6 (C6) ; 73.6, 75.4, 75.8, 76.4 (4 CH_2Bn) ; 72.4, 77.4, 78.5, 85.6 (C2, C3, C4 et C5) ; 128.1-128.9 m (C ar.) ; 137.9, 138.3, 138.5, 138.8 (C ar. quat.) ; 171.5 (CO_2Me).

10

Le produit 12e est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement pondéral de 32% (Figure 14).

Données RMN :

15

RMN ^{19}F (CDCl_3 , 282,5 MHz)

-112.6, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 267$ Hz) ; -113.7, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 261$ Hz) ; -117.2 d ($^2J_{\text{F-F}} = 261$ Hz) ; -117.3, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 267$ Hz).

20 RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz)

1.52-1.89, m, 4H, $(\text{CH}_2)_2$; 3.5-3.63, m, 3H, H5 et H6 ; 3.67, s, 3H, CO_2CH_3 ; 3.82-4.06, m, 5H, CH_2N ; H2 ; H3 et H4 ; 4.33-4.92, m, 9H, CHN et 4 CH_2Bn ; 7.10-7.20, m, 20H, H ar.

25 Le produit 12f est obtenu sous la forme de cristaux blancs avec un rendement pondéral de 17% (Figure 15).

RMN ^{19}F (CDCl_3 , 282,5 MHz)

-117.6, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 257$ Hz) ; -122.4, d, ($^2J_{\text{F-F}} = 257$ Hz).

30

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz)

1,35, d, $^3J=7,2$ Hz, 3 H, CH_3 , 3.05, m, 2 H, CH_2Ph ; 3.5-3.71, m, 3H, H5 et H6; 3.70, s, 3H, CO_2CH_3 ; 3.89-4.01, m, 3H, H2; H3 et H4; 4.26-4.89, m, 11H, NH, 2 CHN et 4 CH_2Bn ; 6,05, m, 1H, NH; 7.10-7.20, m, 25H, Har.

5

Le composé 7 peut également être utilisé dans une réaction de UGI avec une amine telle que la benzylamine 18, un aldéhyde 19 et un isonitrile tel que l'isocyanate d'éthyle 20 pour les composés 13-17.

- 10 Il s'agit d'une voie d'accès vers la synthèse de composés thérapeutiques (manno- et fucoseptides) qui sont des inhibiteurs de la liaison entre la sélectine et le tétrasaccharide sialyl Lewis^x (sLe^x).

15 Les leucocytes jouent un rôle important dans de nombreux phénomènes inflammatoires et immunologiques. Dans beaucoup de ces phénomènes, les premières étapes sont des interactions entre les cellules endothéliales et les leucocytes circulant dans le sang.

20 La recherche de molécules spécifiques à la surface des cellules, impliquées dans ces interactions, a montré que les leucocytes et les cellules endothéliales possèdent à leur surface des lectines spécifiques appelées sélectines. Ce sont des molécules d'adhésion cellulaire de la famille des molécules calcium dépendantes. Le sLe^x est un des ligands impliqués dans la liaison entre sélectines, entraînant ainsi l'adhésion des leucocytes sur le tissu endothélial pour conduire à des formes aiguës de maladies telles que l'arthrose
25 rhumatismale, le psoriasis, le cancer.

Par conséquent, le développement de molécules inhibitrices de petite taille du sLe^x est une approche thérapeutique attractive.

Synthèse du composé 13 (Figure 17) :

Tous les réactifs sont dilués dans du méthanol sec afin d'obtenir une concentration de 1M.

5

Dans un ballon de 25mL, une solution d'hexanal (0,081 mL ; 0,675 mmol) est placée avec une solution de benzylamine **18** (0,059 mL ; 0,54 mmol) et le mélange est agité sous argon pendant deux heures à température ambiante.

10

Puis, une solution d'isocyanoacétate d'éthyle **20** (0,074 mL ; 0,675 mmol) et une solution de D-glucose *gem*-difluoré sous forme d'acide **7** (286 mg ; 0,45 mmol) sont ajoutées et le mélange est agité sous argon pendant vingt quatre heures à température ambiante.

15

Le méthanol est ensuite évaporé et la purification du produit est réalisée par chromatographie sur une colonne de silice avec comme éluant un gradient d'acétate d'éthyle/cyclohexane allant dans des proportions de 1/9 à 2/8.

CCM

R_f = 0.18, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 2/8.

20 Données RMN :

RMN ¹⁹F (CDCl₃) :

-104,39 (d, ²J_{F-F}=260,1Hz) ; -104,85 (d, ²J_{F-F}=257,9Hz) ; -108,61 (d, ²J_{F-F}=255,8Hz) ; -108,89 (d, ²J_{F-F}=254,7Hz) ; -108,95 (d, ²J_{F-F}=260,1Hz) ; -112,49
25 (d, ²J_{F-F}=255,8Hz) ; -114,35 (d, ²J_{F-F}=254,7Hz) ; -116,17 (d, ²J_{F-F}=257,9Hz).

RMN ¹H (CDCl₃) :

0.69, t, 3H, H₂₀, ³J_{H19-H20}=6,9Hz ; 0.90-1.10, m, 6H, 1.15, t, 5H, H₁, ³J_{H1-H2}=7,1Hz ; 3.41-3.74, m, 4H ; 3.78-3.99, m, 4H ; 4.07, q, 2H, H₂, ³J_{H1-H2}=7,1Hz ; 4.36-4.55, m, 4H ; 4.61-6.97, m, 8H ; 6.76, t, 0,7H, H₅, ³J_{H4-H5}=5,5Hz ; 6.82, t, 0,3H, H₅ rotamère, ³J_{H4-H5}=5,3Hz ; 7.00-7.26, m, 25H, H_{Ph}.

30

Spectrométrie de masse : (introduction directe, FAB+) : $M+Na = 959,6$
 $M+K = 975,7$

5 **Synthèse du composé 14 (Figure 18) :**

Tous les réactifs sont dilués dans du méthanol sec afin d'obtenir une concentration de 1M.

- 10 Dans un ballon de 25 mL, une solution de triméthylacétaldéhyde (0,073 mL ; 0,675 mmol) est placée avec une solution de benzylamine **18** (0,059 mL ; 0,54 mmol) et le mélange est agité sous argon pendant deux heures à température ambiante.

- 15 Puis une solution d'isocyanoacétate d'éthyle **20** (0,074 mL ; 0,675 mmol) et une solution de D-glucose *gem*-difluoré sous forme d'acide **7** (286 mg ; 0,45 mmol) sont ajoutées et le mélange est agité sous argon pendant vingt quatre heures à température ambiante.

- 20 Le méthanol est évaporé et la purification du produit est réalisée par chromatographie sur une colonne de silice avec comme éluant un gradient d'acétate d'éthyle/cyclohexane dans des proportions allant de 1/9 à 3/7.

Le produit obtenu est une huile jaune sous la forme de deux diastéréoisomères qui sont séparés.

Analyses du 1^{ier} diastéréoisomère 14a

25

CCM

$R_f = 0.70$, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane : 4/6.

Données RMN :

30

RMN ^{19}F (CDCl₃) :

-105,31 (d, $2J_{F-F}=267,0\text{Hz}$) ; -106,69 (d, $2J_{F-F}=267,0\text{Hz}$).

RMN ^1H (CDCl_3) :

0.99, s, 9H, H_{18} ; 1.16, t, 3H, H_1 , $^3J_{\text{H}_1-\text{H}_2}=6,9\text{Hz}$; 3.39-3.65, m, 4H ; 3.90, dd,
5 2H, $J=8,9\text{Hz}$; 4.00-4.15, q, 3H, H_2 , $^3J_{\text{H}_1-\text{H}_2}=6,9\text{Hz}$; 4.37, d, 1H, $J=11,7\text{Hz}$;
4.49, t, 2H, $J=10,7\text{Hz}$; 4.69-4.97, m, 7H ; 5.53, s, 1H, H_7 ; 6.49, m, 1H, H_5 ;
7.08-7.27, m, 25H, H_{Ph} .

Spectrométrie de masse : (introduction directe, FAB+) : $\text{M}+\text{Na} = 945,4$.

10

Analyses du 2^{ème} diastéréoisomère 14b

CCM

$R_f = 0.65$, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane : 4/6.

15

Données RMN :

RMN ^{19}F (CDCl_3) :

-107,15 (d, $2J_{F-F}=255,7\text{Hz}$).

20

RMN ^1H (CDCl_3) :

1.02, s, 9H, H_{18} ; 1.16, t, 3H, H_1 , $^3J_{\text{H}_1-\text{H}_2}=7,0\text{Hz}$; 3.52-4.00, m, 9H ; 4.09, q,
2H, H_2 , $^3J_{\text{H}_1-\text{H}_2}=7,0\text{Hz}$; 4.33-4.86, m, 8H ; 4.97, dd, 2H, H_{16} , $\text{H}_{16'}$, $^2J_{\text{H}_{16}-\text{H}_{16'}}=17,3\text{Hz}$; 5.33, s, 1H, H_7 ; 6.49, m, 1H, H_5 ; 6.98-7.27, m, 25H, H_{Ph} .

25

Spectrométrie de masse : (MALDI+) : $\text{M}+\text{Na} = 945,4$.

Synthèse du composé 15 (Figure 19) :

30 Tous les réactifs sont dilués dans du méthanol sec afin d'obtenir une concentration de 1M.

Dans un ballon de 25 mL, une solution de 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde **22** (0,132 g ; 0,675 mmol) est placée avec une solution de benzylamine **19** (0,059 mL ; 0,54 mmol) et le mélange est agité sous argon pendant deux heures à température ambiante.

Puis, une solution d'isocyanoacétate d'éthyle **20** (0,074 mL ; 0,675 mmol) et une solution de D-glucose *gem*-difluoré sous forme d'acide **7** (286 mg ; 0,45 mmol) sont ajoutées et le mélange est agité sous argon pendant vingt quatre heures à température ambiante.

10

Le méthanol est évaporé et la purification du produit est réalisée par chromatographie sur une colonne de silice avec comme éluant un gradient d'acétate d'éthyle/cyclohexane allant dans des proportions de 1/9 à 3/7.

15 Le produit obtenu est une huile jaune sous la forme de deux diastéréoisomères **15a**, **15b** qui sont séparés.

Analyses du 1^{ier} diastéréoisomère 15a

20 CCM

R_f = 0.41, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane : 4/6.

Données RMN :

25 RMN ¹⁹F (CDCl₃) :

-111.63, s.

RMN ¹H (CDCl₃) :

1.18, t, 3H, H₁, ³J_{H1-H2}=7,2Hz ; 3.38, t, 1H, J=6,6Hz ; 3.58, s, 9H, H₁₇ 3.65, s, 4H ; 3.93-4.14, m, 7H ; 4.40-4.53, m, 3H ; 4.70-4.87, m, 3H ; 4.86, dd, 2H,

30

$H_{16}, H_{16'}, {}^2J_{H16-H16'}=16,9\text{Hz}$; 5.33, s, 1H ; 6.38, s, 1H, H_7 ; 6.43, t, 1H, H_5 , ${}^3J_{H4-H5}=4,5\text{Hz}$; 6.90-7.25, m, 27H, H_{Ph} .

Spectrométrie de masse : (introduction directe, FAB+) : $M+Na = 1055,7$

5

Analyses du 2^{ème} diastéréoisomère 15b

CCM

$R_f = 0.32$, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane : 4/6.

10

Données RMN :

RMN ${}^{19}\text{F}$ (CDCl_3) :

-108,12 (d, ${}^2J_{F-F}=251,9\text{Hz}$) ; -115,19 (d, ${}^2J_{F-F}=251,9\text{Hz}$).

15

RMN ${}^1\text{H}$ (CDCl_3) :

1.17, t, 3H, H_1 , ${}^3J_{H1-H2}=7,0\text{Hz}$; 3.32-3.41, m, 1H ; 3.65, s, 9H, H_{17} ; 3.70, s, 3H ; 3.78-3.98, m, 5H ; 4.08, q, 4H, H_2 , ${}^3J_{H1-H2}=7,0\text{Hz}$; 4.32, s, 2H ; 4.60, dd, 2H, $J=10,54\text{Hz}$; 4.67, s, 2H ; 4.87, s, 1H ; 5.09, s, 1H ; 6.30, t, 1H, H_5 , ${}^3J_{H4-H5}=4,9\text{Hz}$; 6.52, s, 2H, H_7 ; 6.86-7.23, m, 27H, H_{Ph} .

20

Spectrométrie de masse : (introduction directe, FAB+) : $M+Na = 1055,7$

Synthèse du composé 16 (Figure 20) :

25

Tous les réactifs sont dilués dans du méthanol sec afin d'obtenir une concentration de 1M.

Dans un ballon de 25 mL, une solution de benzaldéhyde (0,059 mL ; 0,675 mmol) est placée avec une solution de benzylamine **18** (0,059 mL ; 0,54

30

mmol) et le mélange est agité sous argon pendant deux heures à température ambiante.

Puis, une solution d'isocyanoacétate d'éthyle **20** (0,074 mL ; 0,675 mmol) et une solution de D-glucose *gem*-difluoré sous forme d'acide **7** (286 mg ; 0,45 mmol) sont ajoutées et le mélange est agité sous argon pendant vingt quatre heures à température ambiante.

Le méthanol est évaporé et la purification du produit est réalisée par chromatographie sur une colonne de silice avec comme éluant un gradient d'acétate d'éthyle/cyclohexane allant dans des proportions de 1/9 à 3/7.

Le produit est obtenu sous la forme de deux diastéréoisomères **16a**, **16b** qui sont séparés.

15 Analyses du 1^{ier} diastéréoisomère 16a

CCM

R_f = 0.26, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane : 3/7.

20 Données RMN :

RMN ¹⁹F (CDCl₃) :

-111.66, s, 2F.

25 RMN ¹H (CDCl₃) :

1.15, t, 3H, H₁, ³J_{H1-H2}=7,0Hz ; 3.52-3.79, m, 3H ; 3.83, dd, 1H, J=4,5Hz ; 3.90-4.01, m, 4H ; 4.07, q, 2H, H₂, J=7,0Hz ; 4.36-4.52, m, 4H ; 4.68-4.82, m, 5H ; 4.94, dd, 2H, H₁₆, ²J_{H16-H16'}=15,8Hz ; 5.20, s, 1H, H₇ ; 6.29, t, 1H, H₅, ³J_{H4-H5}=4,5Hz ; 6.96-7.23, m, 30H, H_{Ph}.

30

RMN ¹³C (CDCl₃) :

14.2, C₁ ; 41.6, C₄ ; 52.0, 61.6, C₂ ; 66.2, 68.5, 71.7, 73.5, 75.1, 75.4, 75.9,
77.5, 78.6, 83.5, 96.9, t, C₁₀, ²J_{C10-F}=27,6Hz ; 114.3, t, C₉, ¹J_{C-F}=262,9Hz ;
126.9, 127.2, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5,
128.5, 128.6, 128.8, 130.0, 133.0, 136.3, 137.8, 138.0, 128.6, 165.1, t, C₈, ²J<sub>C8-
5 F</sub>=26,4Hz ; 168.3 ; 169.7.

Spectrométrie de masse : (MALDI+) : M+Na = 965,5

M+K = 981,5

10 **Analyses du 2^{ème} diastéréoisomère 16b**

CCM

Rf = 0.71, éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane : 5/5.

15 **Données RMN :**

RMN ¹⁹F (CDCl₃) :

-107,71(d, ²J_{F-F}=253,1Hz) ; -115,09 (d, ²J_{F-F}=253,1Hz).

20 RMN ¹H (CDCl₃) :

1.16, t, 3H, H₁, ³J_{H1-H2}=7,0Hz ; 3.35-3.40, m, 1H ; 3.51-3.70, m, 4H ; 3.84-
4.00, m, 5H ; 4.08, q, 2H, H₂, ³J_{H1-H2}=7,0Hz ; 4.23, s, 1H ; 4.62, dd, 2H,
J=9,98Hz ; 4.67, s, 1H ; 4.81, d, 1H, J=3,8Hz ; 4.98, s, 1H ; 5,08, d, 1H, H₁₆
ou H_{16'}, ²J_{H16-H16'}=18, 0Hz ; 6.08, t, 1H, H₅, ³J_{H4-H5}=4,9Hz ; 6.76-6.85, m, 1H ;

25 6.95-7.29, m, 30H, H_{Ph}.

Spectrométrie de masse : (MALDI+) :

M+Na = 965,4

M+K = 981,3

Synthèse du composé 17 (Figure 21) :

Dans un ballon de 25 mL, le 1^{ier} diastéréoisomère du (2-{Benzyl-[2,2-difluoro-2-(3(*R*),4(*S*),5(*S*)-tris-benzyloxy-6(*R*)-benzyloxymethyl-2(*R*)-hydroxy-tetrahydro-pyran-2-yl)-acetyl]-amino}-2-phenyl-acetylamino)-acetic acid ethyl ester **16a** (0,139 g ; 0.147 mmol) est placé avec 6,6 mL de méthanol et une pointe de spatule de palladium sur charbon Pd/C 10%. Après avoir mis sous vide, une baudruche d'hydrogène est installée et une agitation est maintenue toute la nuit à température ambiante.

10

La solution est filtrée sur célite, puis évaporée pour donner le produit **17** sous la forme de cristaux blancs.

Données RMN :

15

RMN ¹⁹F (CD₃OD) :

-108,37 d, ²J_{F-F}=261,7Hz) ; -109,29 (d, ²J_{F-F}=256,8Hz) ; -111,04 (d, ²J_{F-F}=261,7Hz) ; -115,44 (d, ²J_{F-F}=256,8Hz) ; -120.50, s.

20 RMN ¹H (CD₃OD) :

1.19, t, 3H, H₁, ³J_{H1-H2}=7,1Hz ; 3.39-3.52, m, 1H ; 3.59-3.98, m, 7H ; 4.04-4.19, m, 2H ; 4.28, dd, 1H, ²J=17,7Hz ; 5.22, dd, 1H, H₁₆, H_{16'}, ²J_{H16-H16'}=17,7Hz ; 5.67, s, 1H, H₇ ; 6.69-7.40, m, 10H, H_{Ph}.

25 **Spectrométrie de masse : (introduction directe, FAB+) : M+Na=605,0**

En série glucose la préparation de l'amide **21** est décrite (Figure 22) :

30 Dans un ballon de 50 mL sous argon, l'ester **6** (0.193 g, 0.291 mmol, 1 éq.) est dissous dans du dichlorométhane anhydre (5 mL). La p-méthoxybenzylamine

22 (0.057 mL, 0.436 mmol, 1.5 éq.) est ajoutée et le mélange est laissé sous agitation pendant une nuit. Ensuite, la solution est évaporée sous vide.

La purification est réalisée par chromatographie sur une colonne de silice avec
5 comme éluant un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle dans des proportions de neuf pour un.

Après concentration, le produit **21** se présente sous forme d'un solide blanc avec un rendement pondéral de 56%.

10

Les analyses effectuées pour confirmer la structure du produit obtenu **21** sont présentées ci-dessous :

CCM

15 $R_f = 0.52$; éluant : acétate d'éthyle / cyclohexane 3/7

Données RMN :

RMN ^{19}F (282 MHz ; solvant : chloroforme deutéré (CDCl_3)) :

20 -117.38, d, $J_{\text{F-F}}=257\text{Hz}$; -121.90, d, $J_{\text{F-F}}=257\text{Hz}$

RMN ^1H (300 MHz ; solvant : chloroforme deutéré (CDCl_3)) :

3.3-5, m, 16H (cycle+4xOBn) ; 3.66, s, 3H : CH_3 (OMe) ; 6.73, d, $J=8.4\text{Hz}$,
2H : 2CH (PMB) ; 7.07, d, $J=8.4\text{Hz}$, 2H : 2CH (PMB) ; 7.14-7.24, m, 20H :
25 4x5 CH (Ph).

RMN ^{13}C (75.5 MHz ; solvant : chloroforme deutéré (CDCl_3)) :

43.35, CH_2 (PMB) ; 55.68, CH_3 (OMe) ; 68.68, CH_2 (C_6) ; 73.06, CH ; 73.82 ,
75.47 , 75.67 , 76.37 : 4x CH_2 (OBn) ; 77.83 , CH ; 78.62 , CH ; 83.79 , CH ;
30 96.59 ,dd, $J_{\text{C-F}}=28.17\text{Hz}$

et $J_{C-F}=26.44\text{Hz}$, $-\text{CF}_2\text{CH}(\text{OH})\text{O}-$; 112.79 , dd, $J_{C-F}=263.6\text{Hz}$ et $J_{C-F}=259.6\text{Hz}$, CF_2 ; 114.60 , 2 CH (PMB) ; 137-138 CH (Ph + PMB) ; 159.71 , C quat (C-OMe PMB) ;
163.32, dd, $J_{C-F}=31.6\text{Hz}$ et $J_{C-F}=31.0\text{Hz}$, CF_2CONH .

5

- **Réduction de la fonction ester**

La transformation de la fonction ester des C-glycosides difluoroacétylés en d'autres fonctions permet d'avoir accès à une large gamme de glycoconjugués. La réactivité de cette fonction ester en α d'un groupe difluorométhylène a été étudiée et notamment sa réduction.

La fonction ester des composés **2** (ou **6**) est réduite en alcool par le tétraborohydrure de sodium (NaBH_4) ou le tétrahydrure de lithium aluminium (LiAlH_4) pour donner le composé **23** (Figure 22). La fonction alcool de ce composé est ensuite oxydée en aldéhyde pour donner le composé **24** par différentes méthodes telles que les méthodes de Swern, de Dess-Martin ...

Il est à noter que la réduction directe de la fonction ester en aldéhyde par l'hydruure de diisobutylaluminium (DIBAH) est possible sur des composés non osidiques.

- Réduction d'un ester **25** en alcool **26** (Figure 23) :

25

Dans un ballon de 25 mL sont placés l'ester **25** (30 mg ; 45 nmol ; 1 éq.), le tétraborohydrure de sodium NaBH_4 (5 mg ; 134 nmol ; 3 éq.) et 5 mL d'éthanol (EtOH).

La solution est laissée sous agitation à température ambiante pendant une nuit, puis est évaporée à sec sous vide.

Le précipité blanc est redissous dans 10 mL d'eau et 10 mL de dichlorométhane.

- 5 Les phases sont séparées, la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane (deux fois 10 mL) puis les phases organiques sont regroupées, séchées sur sulfate de magnésium anhydre et évaporées sous vide pour donner 24 mg de l'alcool **26** (38 nmol) avec un rendement pondéral de 86%.
- 10 Les analyses effectuées pour confirmer la structure du produit obtenu **26** sont présentées ci-dessous :

CCM

R_f = 0,44 ; cyclohexane / acétate d'éthyle 8/2

15

Données RMN :

RMN ¹⁹F (282 MHz, solvant : chloroforme deutéré (CDCl₃))

- 110.68, dm, ²J_{F-F}=259.7 Hz, J_{F-H} non mesurable ; -117.8, dm, ²J_{F-F}=259.7 Hz,

20 J_{F-H} non mesurable

RMN ¹H (300 MHz, solvant : chloroforme deutéré (CDCl₃))

0.00, s, 6H (2x CH₃ TBDMS) ; 0.84, s, 9H (3x CH₃ TBDMS) ; 3.39-4.96, m, 15H ; 7.23-7.33, m, 15H (3x 5CH Ph)

25

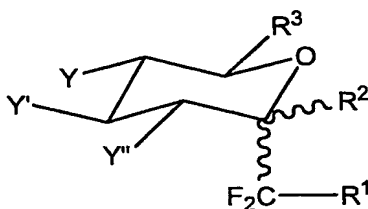
RMN ¹³C (75.5 MHz, solvant : chloroforme deutéré (CDCl₃)) - DEPT 135

-5.04 et -5.09 , 2CH₃ (TBDMS) ; 26.25, 3 CH₃ (TBDMS) ; 62.37, CH₂ (C6) ; 64.16, CH₂, t , ²J_{C-F}=31 Hz (CF₂CH₂OH) ; 73.23 , 74.87 et 75.64, 3x CH₂ (OBn) ; 73.45 , 74.80 , 79.52 et 84.81 , 4x CH (C2 à C5) ; 78.15, CH, dd, ²J_{C-}

30 _F=26 et 29 Hz ; 128.1-128.9, 3x 5 CH (OBn).

Revendications

1. Composé gem difluoré de formule :



5 où

R^1 est un groupement comportant une chaîne alkyle substituée par au moins une fonction amine, amide ou acide,

R^2 est un atome d'hydrogène H ou une fonction alcool libre ou protégée,

10 R^3 est un groupement H, CH_3 , CH_2OH , CH_2-OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac)...

Y, Y', Y'' sont des groupes indépendants

Où $Y, Y', Y'' = H, OR, N_3, NR'R'', SR''' \dots$

15

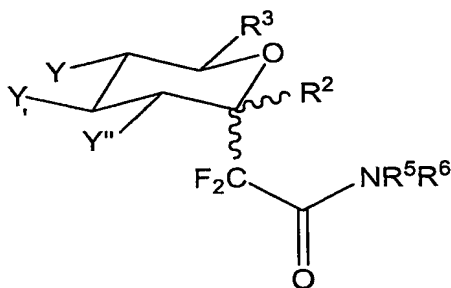
avec $R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, \dots$,

$R', R'' = H, \text{alkyl}, \text{allyl}, Bn, \text{tosylate (Ts)}, C(=O)\text{-alkyl}, C(=O)\text{-Bn}, \dots$,

$R''' = H, \text{alkyl}, Ac.$

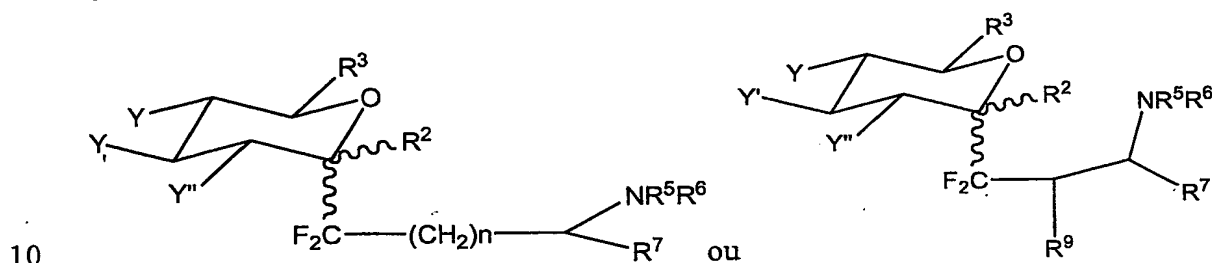
20 2. Composé selon la revendication 1,

caractérisé en ce qu'il comprend un composé C-glycoside de formule générale :



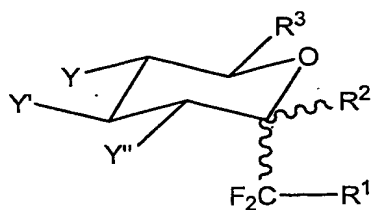
où R^5 et $R^6 = H$ ou un groupement fonctionnalisé ou non tel qu'une chaîne carbonée fonctionnalisée portant entre autres une fonction amine, aminoacide, aminoester, une chaîne peptidique, une protéine, un carbohydrate, un stéroïde ou un triterpène, un alcaloïde, un lignane ou des composés d'intérêt pharmacologique.

3. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un composé glycoconjugué de formule générale :



où R^5 , R^6 , R^7 et $R^9 = H$ ou un groupement fonctionnalisé ou non tel qu'une chaîne carbonée fonctionnalisée portant entre autres une fonction amine, aminoacide, aminoester, une chaîne peptidique, une protéine, un carbohydrate, un stéroïde ou un triterpène, un alcaloïde, un lignane ou des composés d'intérêt pharmacologique.

4. Procédé de préparation d'un composé gem difluoré de formule :



où

20 R^1 est un groupement comportant une chaîne alkyle substituée par au moins une fonction amine ou amide,

R^2 est un atome d'hydrogène H ou une fonction alcool libre ou protégée,

R^3 est un groupement H, CH_3 , CH_2OH , CH_2-OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-

butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac)...

Y, Y', Y'' sont des groupes indépendants

Où Y, Y', Y'' = H, OR, N₃, NR'R'', SR''' ...

5 avec R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, ...,

R', R'' = H, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), C(=O)-alkyl, C(=O)-Bn, ...,

R''' = H, alkyl, Ac.

10 caractérisé en ce qu'il comprend une réaction entre une lactone et un dérivé halogéné de formule générale XCF₂CO₂R⁸, où X est un halogène, en présence de zinc ou d'un dérivé lanthanide et R⁸=alkyl, aryl...

5. Procédé selon la revendication 4,
caractérisé en ce que ledit dérivé lanthanide est le diiodure de samarium.
15

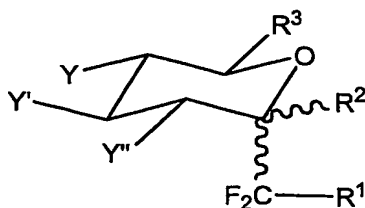
6. Procédé selon la revendication 4,
caractérisé en ce que ledit dérivé de sucre est obtenu en une ou plusieurs étapes à partir d'un sucre correspondant disponible dans le commerce.

20 7. Procédé selon la revendication 4,
caractérisé en ce que ladite réaction est suivie d'une déoxygénation.

8. Procédé selon la revendication 4,
caractérisé en ce que le groupe R⁸ comprend une fonction ester qui est réduite
25 en alcool.

9. Procédé selon la revendication 4,
caractérisé en ce que le groupe R⁸ comprend une fonction ester qui est réduite
en alcool puis oxydée en aldéhyde ou hémiacétal ou directement réduite en
30 aldéhyde.

10. Procédé de préparation d'un composé gem difluoré de formule :



où

$R^1 = -C(=O)-NR^5R^6$, où R^5 et $R^6 = H$ ou un groupement fonctionnalisé ou non tel qu'une chaîne carbonée fonctionnalisée portant entre autres une fonction amine, aminoacide, aminoester, une chaîne peptidique, une protéine, un

carbohydrate, un stéroïde ou un triterpène, un alcaloïde, un lignane ou des composés d'intérêt pharmacologique,

R^2 est un atome d'hydrogène H ou une fonction alcool libre ou protégée,

R^3 est un groupement H, CH_3 , CH_2OH , CH_2-OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac)...

Y, Y', Y'' sont des groupes indépendants

Où Y, Y', Y'' = H, OR, N_3 , $NR'R''$, SR''' ...

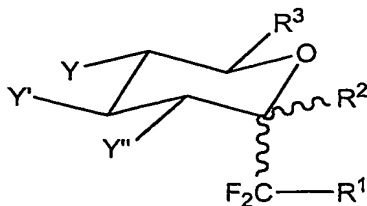
avec R = H, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS, ...,

$R', R'' = H$, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), $C(=O)$ -alkyl, $C(=O)$ -Bn, ...,

$R''' = H$, alkyl, Ac.

caractérisé en ce qu'il comprend une réaction de Ugi avec une amine, un aldéhyde et un isonitrile.

11. Procédé de préparation d'un composé gem difluoré de formule :



où

$R^1 = -C(=O)-NR^5R^6$, où R^5 et $R^6 = H$ ou un groupement fonctionnalisé ou non tel qu'une chaîne carbonée fonctionnalisée portant entre autres une fonction amine, aminoacide, aminoester, une chaîne peptidique, une protéine, un carbohydrate, un stéroïde ou un triterpène, un alcaloïde, un lignane ou des composés d'intérêt pharmacologique,

R^2 est un atome d'hydrogène H ou une fonction alcool libre ou protégée,

R^3 est un groupement H , CH_3 , CH_2OH , CH_2-OGP où GP est un groupe protecteur tel qu'un groupe alkyle, benzyle (Bn), triméthylsilyle (TMS), tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS), tert-butyldiphénylsilyle (TBDPS), acétate (Ac)...,

Y , Y' , Y'' sont des groupes indépendants

Où Y , Y' , $Y'' = H$, OR , N_3 , $NR'R''$, SR''' ...

avec $R = H$, Bn, Ac, TMS, TBDMS, TBDPS,...,

R' , $R'' = H$, alkyl, allyl, Bn, tosylate (Ts), $C(=O)$ -alkyl, $C(=O)$ -Bn,...,

$R''' = H$, alkyl, Ac.

caractérisé en ce qu'il comprend une réaction de couplage d'un dérivé de sucre avec une amine.

12. Composition,

caractérisée en ce qu'elle comporte au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 3 ou un de ses dérivés ou un de ses sels obtenus par addition à un acide minéral ou organique pharmaceutiquement acceptable.

13. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation de médicaments antitumoraux.

14. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation de médicaments antiviraux.

15. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation de médicaments hypoglycémiants.

16. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation de composés pour l'immunologie.

17. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation de composés anti-inflammatoires.

18. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation de composés pour la cosmétologie.

19. Utilisation d'un composé gem difluoré selon l'une des revendications 1 à 3 pour la préparation d'analogues glycopeptidiques de molécules antigél.

1/8

FIG. 1

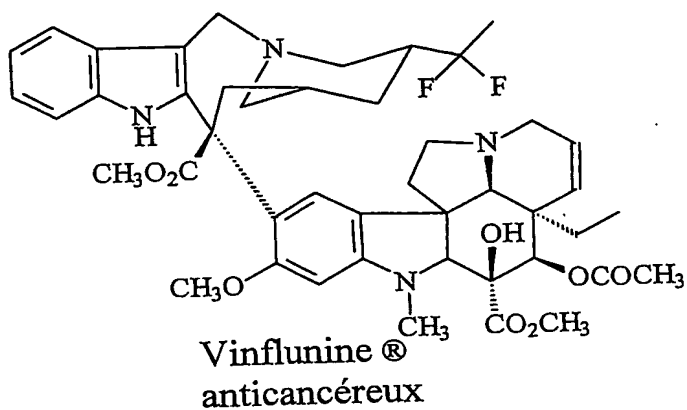
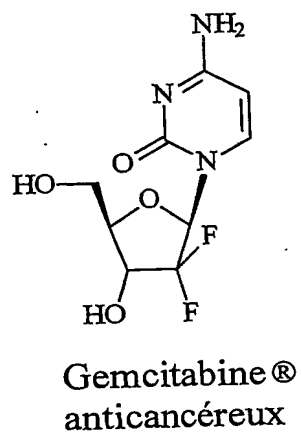


FIG. 2

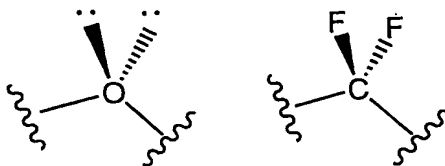
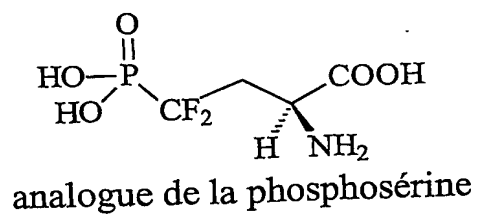
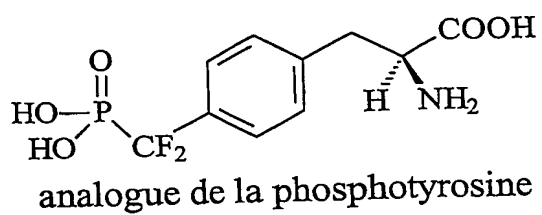


FIG. 3



2/8

FIG. 4

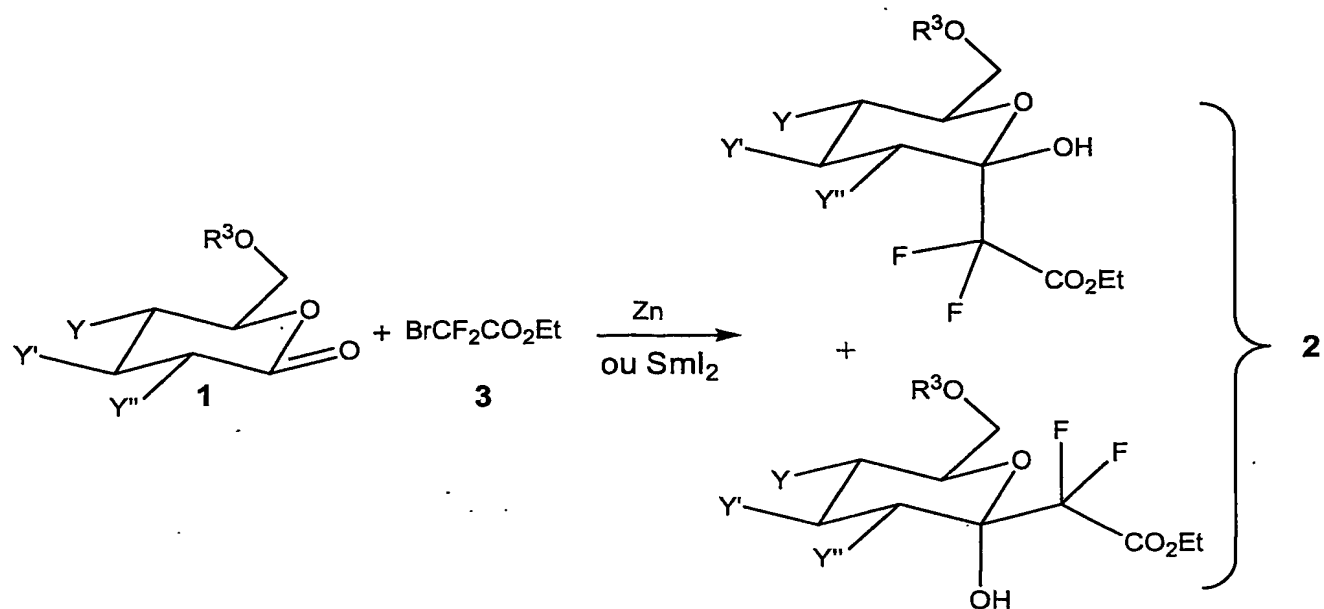


FIG. 5

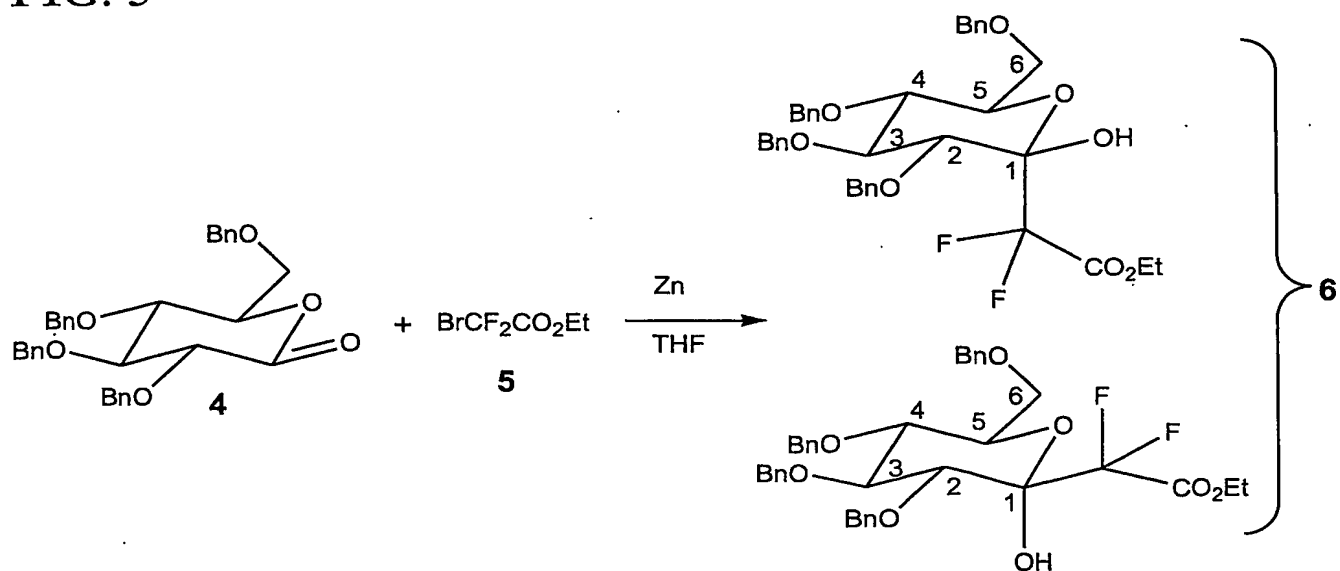


FIG. 6

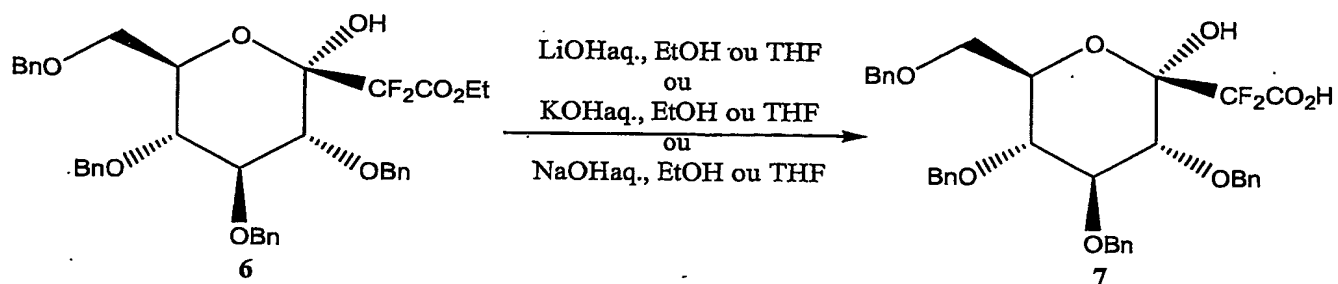


FIG. 7

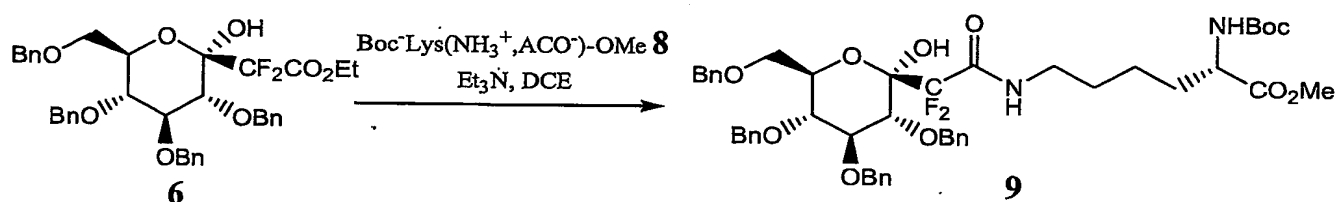


FIG. 8

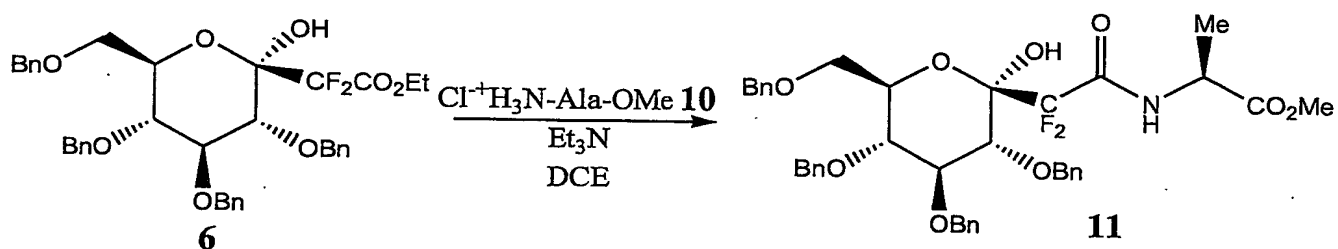


FIG. 9

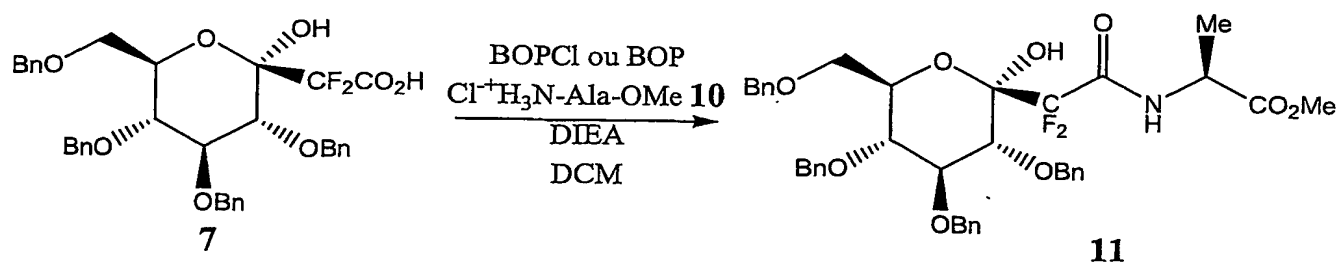


FIG. 10

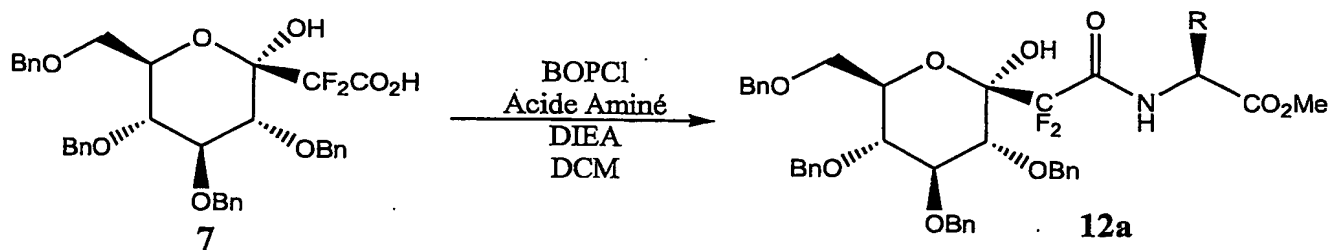


FIG. 11

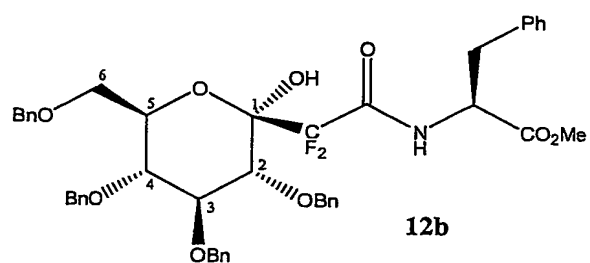


FIG. 12

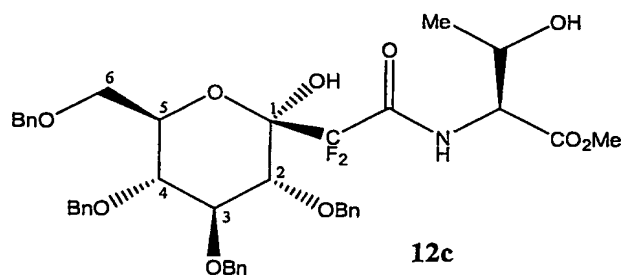


FIG. 13

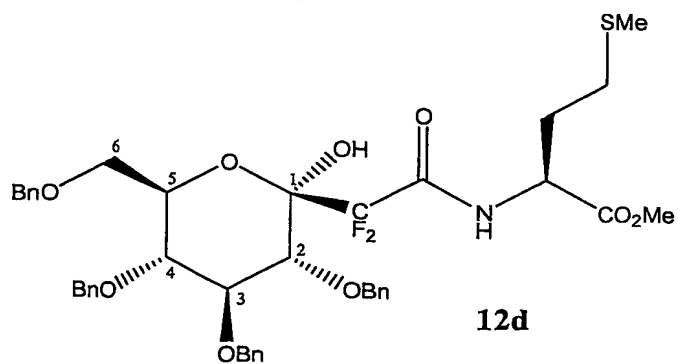
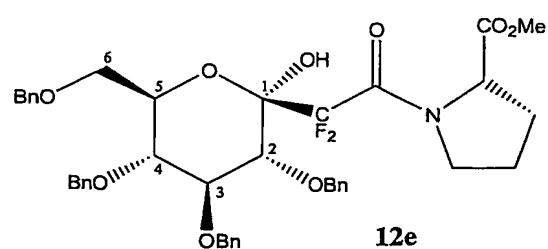


FIG. 14



5/8

FIG. 15

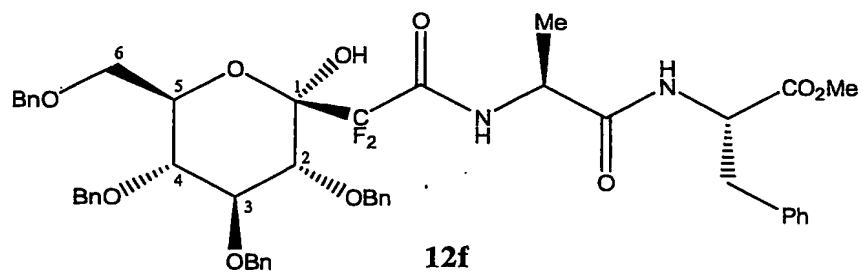


FIG. 16

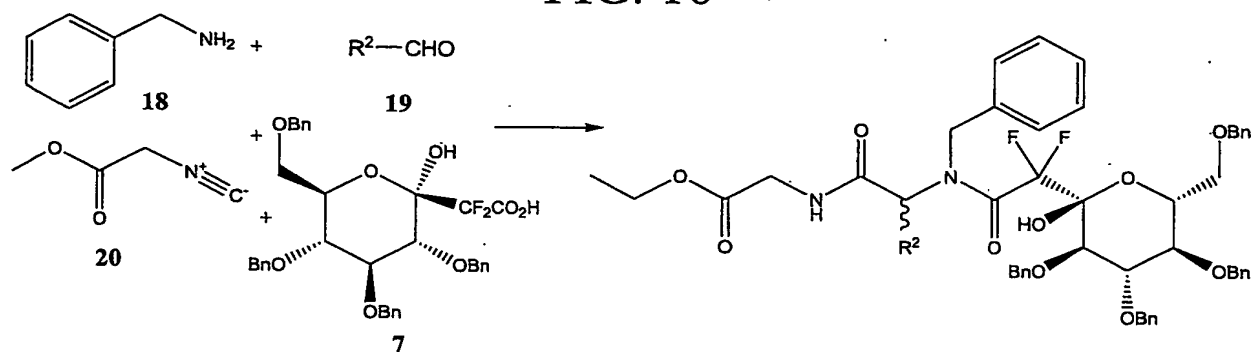
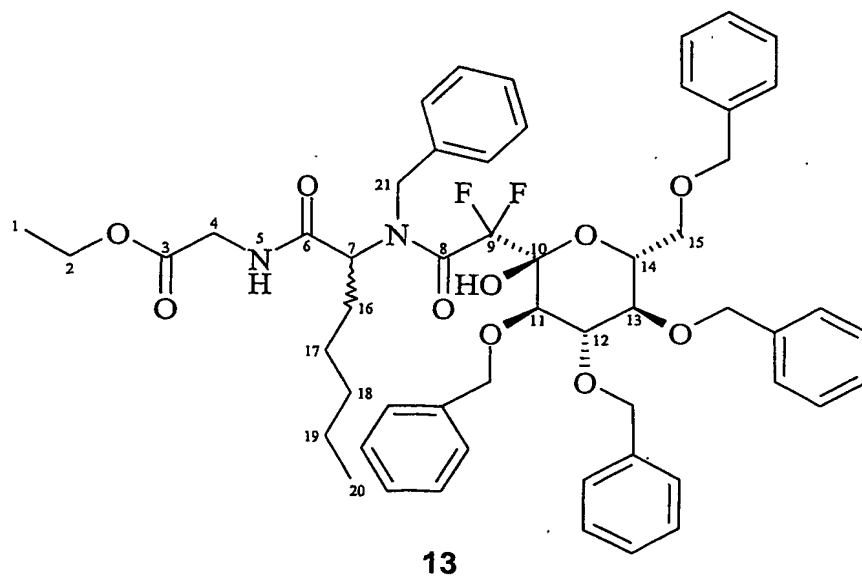


FIG. 17



6/8

FIG. 18

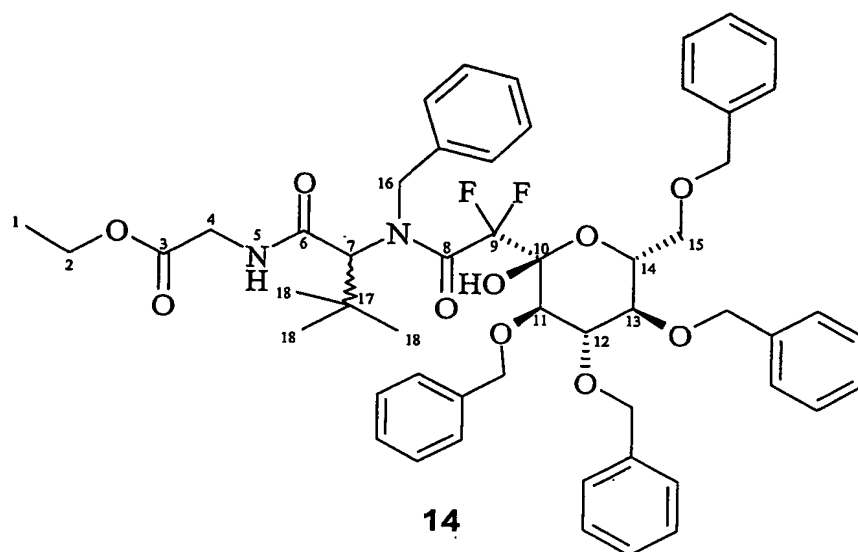


FIG. 19

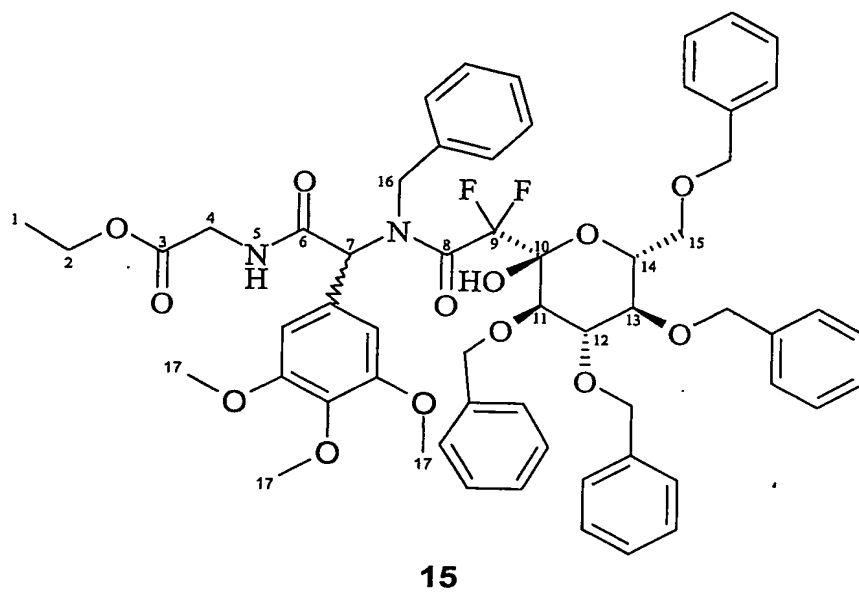


FIG. 20

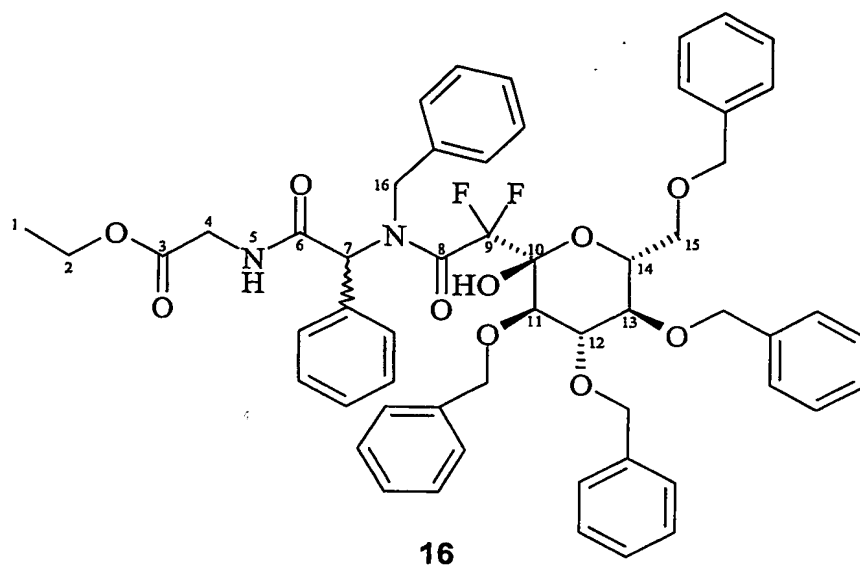


FIG. 21

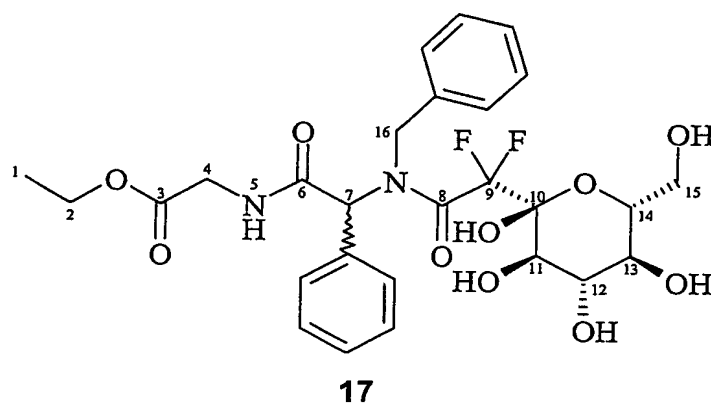
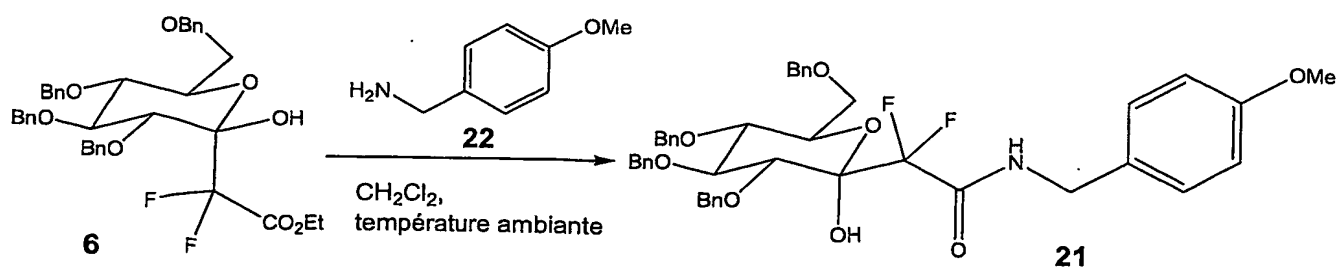


FIG. 22



8/8

FIG. 23

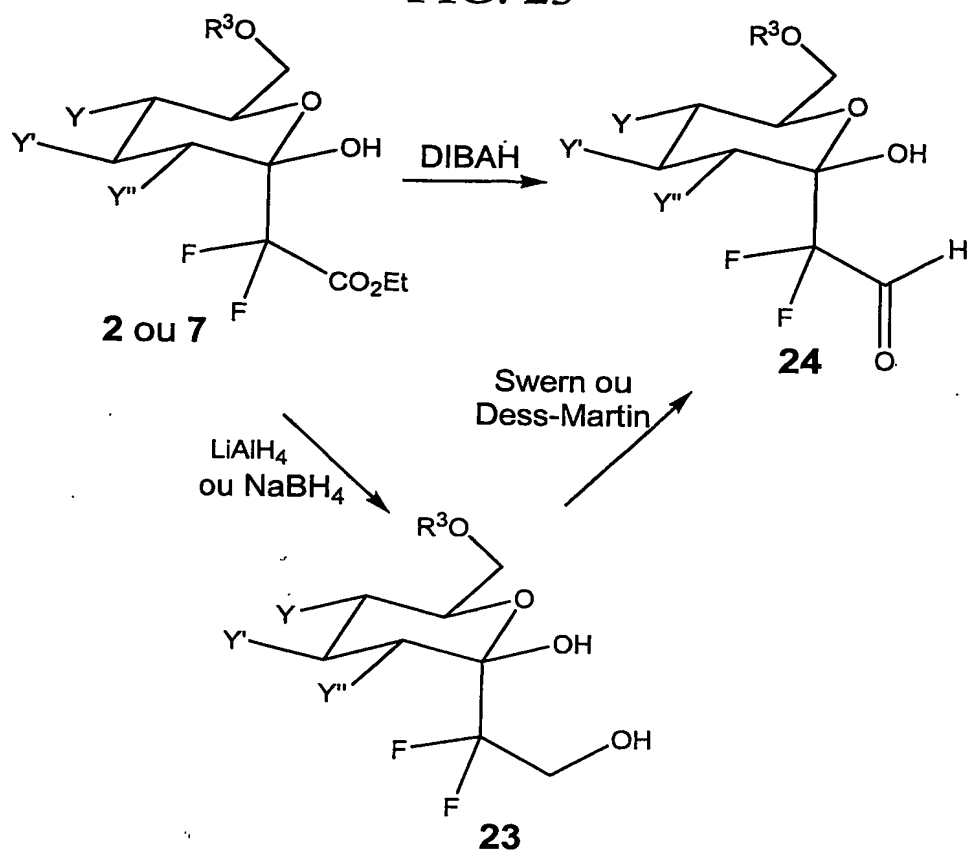


FIG. 24

